



①9 **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 198 60 117 A 1**

⑥1 Int. Cl.⁷:
B 01 D 57/02

②1 Aktenzeichen: 198 60 117.4
②2 Anmeldetag: 23. 12. 1998
④3 Offenlegungstag: 13. 7. 2000

DE 198 60 117 A 1

⑦1 Anmelder:
EVOTEC BioSystems AG, 22525 Hamburg, DE

⑦4 Vertreter:
v. Bezold & Sozien, 80799 München

⑦2 Erfinder:
Fuhr, Günter, Prof.Dr., 13187 Berlin, DE; Hagedorn,
Rolf, Dr., 13057 Berlin, DE; Müller, Torsten, Dr.,
12439 Berlin, DE; Schnelle, Thomas, Dr., 10243
Berlin, DE

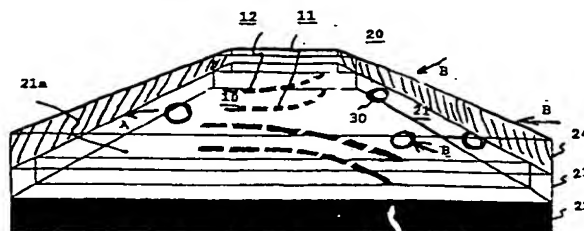
⑤6 Entgegenhaltungen:
WO 98 04 355 A1
WO 94 16 821 A1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤4 Elektrodenanordnung zur dielektrophoretischen Partikelablenkung

⑤7 Bei einer Elektrodeneinrichtung (10) in einem Mikrosystem, das zur dielektrophoretischen Manipulation von Partikeln (30) in einer Suspensionsflüssigkeit in einem Kanal (21) eingerichtet ist, ist mindestens eine Elektrode (11, 12) an einer Wand des Kanals (21) angeordnet, wobei die Elektrode (11, 12) aus einer Vielzahl von Elektrodensegmenten besteht, die zur Erzeugung mindestens eines Feldgradienten zur Beeinflussung der Bewegungsbahnen der Partikel (30) im Kanal (21) eingerichtet sind.



DE 198 60 117 A 1

Die Erfindung betrifft Mikrosysteme, die zur Handhabung suspendierter Teilchen oder biologischer Zellen eingerichtet sind, insbesondere die Gestaltung von Elektroden zur dielektrophoretischen Ablenkung von Teilchen oder Zellen, und
 5 Anwendungen derartiger Mikrosysteme.

Es ist bekannt, in Mikrosystemen mit Elektroden-Kanal-Anordnungen flüssigkeitssuspendierte Teilchen auf der Grundlage negativer oder positiver Dielektrophorese zu manipulieren, wobei unter der Wirkung hochfrequenter elektrischer Felder Polarisationskräfte erzeugt werden, die eine Abstoßung von den Elektroden und in Zusammenarbeit mit Strömungskräften in der Suspensionsflüssigkeit eine Manipulation der Teilchen im Mikrosystem erlauben. Eine Übersichtsdarstellung zu den bekannten Mikrosystemen wird z. B. von G. Fuhr et al. in "Naturwissenschaften", Band 81,
 10 1994, Seite 528 ff., gegeben.

Herkömmliche Mikrosysteme besitzen Nachteile in Bezug auf die Stabilität und Lebensdauer der Elektroden und die Beschränkung auf bestimmte Potentialformen entsprechend der jeweiligen Elektrodengeometrie.

So besitzen die Mikroelektroden herkömmlicher Mikrosysteme in der Regel die Form gerader Bänder, die zur Erzielung bestimmter Kraftbarrieren im Kanal eines Mikrosystems in bestimmter Weise in Bezug auf den Kanal ausgerichtet sind. Aufgrund mechanischer Beanspruchung oder durch Materialermüdung oder auch durch Herstellungsfehler kann es zu Unterbrechungen in den geraden Elektrodenbändern und damit zum Funktionsausfall des gesamten Mikrosystems kommen. Ein herkömmliches System ist ferner entsprechend der gegebenen Elektrodenstrukturierung auf eine bestimmte Funktion beschränkt. Variable Wirkungen zur Teilchenablenkung in einem gegebenen Mikrosystem sind nicht
 20 möglich.

Die Aufgabe der Erfindung ist es, verbesserte Elektrodenanordnungen für Mikrosysteme mit dielektrophoretischer Partikelablenkung zu schaffen, mit denen die Nachteile herkömmlicher Mikrosysteme überwunden werden. Die Aufgabe der Erfindung ist es ferner, Anwendungen derartiger Elektrodenanordnungen anzugeben.

Diese Aufgabe wird durch eine Elektrodenanordnung mit den Merkmalen gemäß dem Patentanspruch 1 gelöst. Vorteilhafte Ausführungsformen und Anwendungen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

Die Grundidee der Erfindung besteht darin, bei einer Elektrodenanordnung in einem Mikrosystem mit dielektrophoretischer Partikelablenkung, die aus mindestens einer Elektrode besteht, eine Unterteilung der Elektrode in Elektrodensegmente vorzusehen. Die Elektrodensegmente sind dazu eingerichtet, gemeinsam oder separat mit Potentialen beaufschlagt zu werden und gemeinsam zusammenwirkend eine Feldbarriere entsprechend der Funktion der jeweiligen Elektrode im Mikrosystem zu bilden. Die Elektrodensegmente sind gegenüber einer Flüssigkeit im Mikrosystem freiliegende Elektrodenflächen, die je nach Gestaltungsform miteinander elektrisch verbunden, wobei dann die Bereiche der elektrischen Verbindungen gegenüber der Flüssigkeit im Mikrosystem nicht freiliegen, d. h. abgedeckt sind, oder elektrisch voneinander isoliert sind. Der Übergang von herkömmlichen, flächigen oder bandförmigen Elektroden zur erfindungsgemäßen Elektrodensegmentierung löst die obengenannte Aufgabe in vorteilhafter Weise in mehrfacher Hinsicht. Einerseits sind die Elektrodensegmente weniger stör anfällig, wie dies im einzelnen unten erläutert wird. Andererseits erlauben sie auch bei separater Ansteuerbarkeit eine in herkömmlichen Mikrosystemen nicht gegebene Multifunktionalität der Mikroelektroden und damit der Mikrosysteme an sich.

Gemäß einer ersten Ausführungsform werden die Elektrodensegmente dadurch gebildet, daß Elektroden mit an sich flächiger oder bandförmiger Ausdehnung eine Isolationsschicht tragen, die in vorbestimmten Teilen Ausnehmungen besitzt. Die Ausnehmungen weisen die Gestalt und Position der gewünschten Elektrodensegmente auf. Durch die Ausnehmungen tritt die Flüssigkeit im Mikrosystem in Kontakt mit der Elektrode, die wegen der isolierenden oder dielektrischen Abdeckung lediglich durch die Ausnehmungen bzw. Elektrodensegmente wirksam und im übrigen unwirksam ist. Diese Gestaltung ist vorteilhaft für die Lebensdauer der Elektroden, da selbst eine Durchtrennung des gesamten Elektrodenanteils, das zur Flüssigkeit hin offenliegt, nicht zum Ausfall der Elektrode führt.

Gemäß einer zweiten Ausführungsform der Erfindung sind die Elektrodensegmente einzeln, unabhängig voneinander ansteuerbar. Die gemeinsam eine Elektrodenfunktion übernehmenden Elektrodensegmente sind im Mikrosystem z. B. an einer Kanalwand in einem Bereich angeordnet, dessen Form einer herkömmlichen Elektrode entspricht, die zur Erfüllung dieser Funktion vorgesehen wäre. Die Elektrodensegmente sind separat mit Potentialen beaufschlagbar, die anwendungsabhängig in Bezug auf die Phasenlage und Amplituden variieren.

Gemäß einer weiteren Ausführungsform der Erfindung sind Elektrodensegmente, die voneinander elektrisch isoliert und einzeln ansteuerbar sind, als Elektrodenarray angeordnet. Ein Elektrodenarray besteht aus einer Vielzahl punkt- oder flächenförmiger Elektrodensegmente, die beispielsweise matrixartig in Reihen und Spalten oder anwendungsabhängig in anderen geometrischen Konfigurationen angeordnet sind und von denen bei Betrieb des Mikrosystems eine vorbestimmte Anzahl von Elektrodensegmenten zur Erzeugung einer bestimmten Elektrodenfunktion mit elektrischen Potentialen beaufschlagt sind, während die übrigen Elektrodensegmente des Elektrodenarrays nicht angesteuert werden. Dies ist eine besonders vorteilhafte Gestaltung einer erfindungsgemäßen Elektrodenanordnung, da je nach Anwendung die Elektrodensegmente verschieden angesteuert und somit die Elektrodenfunktion frei gewählt werden kann. Diese Funktionswahl kann, wie unten erläutert wird, irreversibel oder reversibel erfolgen.

Weitere wichtige Gesichtspunkte der Erfindung sind die geometrische Konfiguration von Elektrodensegmenten, mit denen Gradienten und somit verschieden starke Kräfte erzeugt werden können und/oder die an das Strömungsprofil in der Suspensionsflüssigkeit angepaßt sind. Letztere Gestaltung besitzt den Vorteil, daß die Elektroden kürzer ausgebildet werden können und mit geringeren Kräften behaftet sind, jedoch die gleiche Effektivität wie herkömmliche Mikroelektroden besitzen.

Bevorzugte Anwendungen der Erfindung liegen in der Technik fluidischer Mikrosysteme zur Separation, Manipulation, Beladung, Fusion, Permeation, Pärchenbildung und Aggregatformation von mikroskopisch kleinen, suspendierten Partikeln (synthetische Teilchen und/oder biologische Teilchen, wie z. B. biologische Zellen, Zellbestandteile oder Makromoleküle).

Weitere Einzelheiten und Vorteile der Erfindung werden aus den im folgenden beschriebenen Zeichnungen ersichtlich.

Es zeigen:

Fig. 1 eine schematische Perspektivansicht einer Kanalstruktur mit Mikroelektroden zur Erzeugung von Kraftbarrieren in einem Mikrokanal,

Fig. 2 eine erste Ausführungsform der Erfindung mit bandartigen Elektrodensegmenten,

Fig. 3 weitere Ausführungsformen der Erfindung mit punkt- oder streifenförmigen Elektrodensegmenten, 5

Fig. 4 weitere Ausführungsformen der Erfindung mit bandförmig angeordneten Elektrodensegmenten zur Erzeugung von Feldgradienten,

Fig. 5 eine schematische Draufsicht auf einen Mikrokanal mit bandförmigen Elektrodensegmenten zur Bildung eines Partikeltrichters,

Fig. 6 eine schematische Draufsicht auf einen weiteren Partikeltrichter aus Elektrodensegmenten, 10

Fig. 7 eine schematische Draufsicht auf einen weiteren gegenüber Fig. 6 abgewandelten Partikeltrichter,

Fig. 8 eine schematische Draufsicht auf ein erfindungsgemäßes Elektrodenarray,

Fig. 9 eine Illustration eines Ansteuerbeispiels für ein Elektrodenarray gemäß Fig. 7,

Fig. 10 eine Illustration eines weiteren Ansteuerbeispiels eines Elektrodenarrays gemäß Fig. 7,

Fig. 11 weitere Ausführungsformen erfindungsgemäßer Elektrodensegmente mit Schleifen und Mehrfacheinspeisungen, und 15

Fig. 12 eine weitere Ausführungsform einer programmierbaren Elektrodenanordnung.

Fig. 1 zeigt in schematischer Form beispielhaft die Ausführung von Mikroelektroden zur Erzeugung von Kraftbarrieren in Mikrokanälen. Das fluidische Mikrosystem 20 ist ausschnittsweise in überhöht perspektivischer Seitenansicht einer Kanalstruktur dargestellt. Der Kanal 21 wird beispielsweise durch zwei mit Abstand auf einem Substrat 22 angeordnete Spacer 23 gebildet, die ein Deckteil 24 tragen. Derartige Strukturen werden beispielsweise mit den an sich bekannten Prozessierungstechniken der Halbleitertechnologie hergestellt. Das Substrat 22 bildet die Bodenfläche 21a des Kanals 21. Dementsprechend wird die Deckfläche 21b (aus Übersichtlichkeitsgründen nicht gesondert hervorgehoben) durch das Deckteil 24 gebildet. Die Elektrodenanordnung 10 besteht aus Mikroelektroden 11, 12, die auf der Bodenfläche 21a bzw. auf der Deckfläche 21b angebracht sind. Jede der Mikroelektroden 11, 12 besteht aus mehreren Elektroden- 20
segmenten, die unten näher beschrieben werden. 25

In Fig. 1 bilden die Elektrodensegmente eine Elektrodenstruktur, die im einzelnen unten unter Bezug auf die Fig. 5–7 erläutert wird. Die anderen, im folgenden beschriebenen Ausführungsformen erfindungsgemäßer Elektrodenanordnungen können entsprechend auf den Boden- und/oder Deckflächen des Kanals 21 angebracht sein. Der Mikrokanal 21 wird von einer Suspensionsflüssigkeit durchströmt (im Bild von rechts nach links), in der Partikel 30 suspendiert sind. Die in Fig. 1 dargestellte Elektrodenanordnung 10 besitzt beispielsweise die Aufgabe, die Partikel 30 von verschiedenen Bewegungs- 30
bahnen innerhalb des Kanals auf eine mittlere Bewegungsbahn gemäß Pfeil A zu führen. Hierzu werden die Mikroelektroden 11, 12 derart mit elektrischen Potentialen beaufschlagt, daß sich im Kanal elektrische Feldbarrieren ausbilden, die die von rechts anströmenden Teilchen hin zur Kanalmitte (Pfeilrichtungen B) zwingen.

Die typischen Abmessungen der Mikroelektroden 11, 12 liegen bei einer Breite von 0,1 bis zu einigen zehn Mikrometern (typischerweise 5 . . . 10 µm), einer Dicke von 100 nm bis zu einigen Mikrometern (typischerweise 200 nm) und einer Länge von bis zu mehreren hundert Mikrometern. Die Länge der Elektrodensegmente ist anwendungsabhängig in Abhängigkeit von ihrer Zahl und ihrem jeweiligen Abstand entsprechend kürzer. Das Innere des Kanals 21 wird durch die auf der Ober- und Unterseite der Teile 23, 24 prozessierten Elektroden auf Grund der geringfügigen Dicke der Elektroden nicht eingeschränkt. Das Teil 23 ist ein Spacer, dessen Strukturierung die seitlichen Kanalwände bildet. 35

Die Mikroelektroden 11, 12 werden mittels hochfrequenter elektrischer Signale (typischerweise mit einer Frequenz im MHz-Bereich und einer Amplitude im Voltbereich) angesteuert. Die jeweils gegenüberliegenden Elektroden 11a, 11b bilden ein Ansteuerpaar, wenngleich auch die in einer Ebene liegenden Elektroden in ihrer Ansteuerung (Phase, Frequenz, Amplitude) zusammenwirken. Das durch den Kanal 21, d. h. senkrecht zur Strömungsrichtung erzeugte elektrische Hochfrequenzfeld wirkt auf suspendierte Teilchen 30 (die auch lebende Zellen oder Viren sein können) polarisierend. Bei den genannten Frequenzen und geeigneter Leitfähigkeit der die Teilchen umgebenden Suspensionsflüssigkeit werden die Teilchen von den Elektroden abgestoßen. Damit läßt sich der hydrodynamisch offene Kanal 21 über die elektrischen Felder an- und abschaltbar strukturieren, kompartimentieren bzw. lassen sich die Bewegungsbahnen der Teilchen im passiven Strömungsfeld beeinflussen. Desweiteren ist es möglich, die Teilchen trotz permanenter Strömung zu retardieren bzw. auch ortsstabil ohne Berührung einer Oberfläche zu positionieren. Die Art und Ausführung der dazu gebildeten Elektrodenanordnungen ist auch Gegenstand der Erfindung. 40
45
50

Im folgenden werden Gestaltungsformen erfindungsgemäßer Elektrodenanordnungen beschrieben, wobei aus Übersichtlichkeitsgründen in den Figuren jeweils nur eine planare Elektrodenanordnung (oder Teile einer solchen), z. B. auf der Bodenfläche des Kanals, dargestellt ist.

Für die Erzeugung von elektromagnetischen Begrenzungen in Kanalsystemen von Mikrostrukturen sind schmale, bandartige Elektroden verschiedener Geometrie günstig, da die Verluste proportional zur wirksamen Elektrodenfläche zunehmen. Derart schmale Elektroden sind jedoch gegenüber Produktionsfehlern und lokalen Unterbrechungen sehr empfindlich. So führt ein Haarriß bereits zum Ausfall des gesamten restlichen Teils einer Bandlektrode. Bei der in Fig. 2 dargestellten Ausführungsform werden schmale Bandlektroden ohne die genannten Nachteile realisiert. 55

Die Elektrodenanordnung 10 besteht aus vier separat ansteuerbaren Finzelektroden 11a–11d. Jede Finzelektrode wird durch eine rechteckige metallische Beschichtung 13 z. B. auf der Bodenfläche des Kanals mit einer zugehörigen Steuerleitung 14 gebildet. Die Schichtdicke liegt im Bereich von 50 nm bis zu einigen Mikrometern und beträgt vorzugsweise rd. 200 nm. Die Metallschicht 13 trägt eine strukturierte Isolationsschicht 15 (schraffiert dargestellt). Die Isolationsschicht 15 ist derart strukturiert, daß entlang bestimmter Ausnehmungen die Metallschicht 13 freiliegt (schwarz dargestellt). Die freiliegenden Bereiche bilden die Elektrodensegmente, an denen die Suspensionsflüssigkeit im Kanal direkt mit der Elektrode in Kontakt kommt. Falls im Bereich eines Elektrodensegments etwa ein Haarriß oder ein anderweitiger Fehler auftritt, so wird über die übrige Metallschicht sichergestellt, daß alle Teile des Elektrodensegments dennoch mit den gewünschten elektrischen Potentialen beaufschlagt werden. 60
65

Bei der Ausführungsform gemäß Fig. 2 sind die nebeneinander angeordneten Einzelelektroden 11a–11d so strukturiert, daß zwei Reihen von Elektrodensegmenten gebildet werden. Die Elektrodensegmente jeweils einer Reihe, die gerade oder gekrümmt sein kann, wirken zur Bildung vorbestimmter Kraftbarrieren analog zur Funktion einer herkömmlichen Mikroelektrode zusammen. Je nach Ansteuerung der Einzelelektroden können dabei beispielsweise die folgenden

5 Funktionen erzielt werden.

Werden die Einzelelektroden zur Ausbildung einer in Kanalrichtung trichterförmigen Kraftbarriere (Partikeltrichter) angesteuert, so werden sämtliche Partikel 30a, 30b hin zur Kanalmitte geführt, wie dies oben erläutert wurde. Alternativ ist es aber auch möglich, eine oder mehrere der Einzelelektroden zeitweilig abzuschalten, so daß einzelne Partikel 30a hin zur Kanalmitte geführt werden (Pfeil A), während andere Partikel 30b mit Abstand von der Kanalmitte weiter strömen. Beim dargestellten Beispiel wurde die Einzelelektrode 11c unmittelbar vor Erreichen durch den Partikel 30b kurzzeitig abgeschaltet, so daß in diesem Bereich die Kraftbarriere im Kanal wegfiel. Dadurch kann der Partikel 30b entsprechend Pfeil B weiter bewegt werden. Für die Erzielung der Bahn des Partikels 30a sind sämtliche Einzelelektroden dauernd eingeschaltet.

Die Isolationsschichten bestehen bei sämtlichen Ausführungsformen vorzugsweise aus biokompatiblen Materialien, z. B. Oxiden (SiO_2 , SiNO_3 , und dergleichen), Polymeren, Tantalverbindungen oder dergleichen. Es können auch aufgesputtete Materialien, die elektrisch isolierend sind, verwendet werden. Die Dicke der Isolationsschicht liegt im Bereich oberhalb 100 nm und kann bis zu einigen Mikrometern betragen.

Fig. 3 zeigt beispielhaft weitere Ausführungen a, b, c, d punktförmiger und streifenförmiger Elektrodensegmente sowie segmentierter Elektroden analog zu der in Fig. 2 erläuterten Elektrodenausführung. Die schraffierten Flächen stellen jeweils die mit einer Isolationsschicht bedeckten Metallschichten der Einzelelektroden dar, während die schwarz gefüllten Streifen bzw. Punkte die Elektrodensegmente zeigen. Die Elektrodensegmente sind im Kanal anwendungsabhängig angeordnet. Die Überströmung der Elektroden erfolgt jeweils in der Bildebene von oben nach unten (oder umgekehrt). Der Vorteil der separierten Elektrodenausführung besteht darin, daß durch die externe Ansteuerung der wirksame Verlauf der Bandlektroden hinsichtlich der Teilchenbewegung in weiten Bereich frei variiert werden kann.

Für das Sortieren von Teilchen oder Zellen (z. B. nach dielektrischen Eigenschaften oder der Größe) ist es erforderlich, die Feldstärke über die Länge eines Elektrodenbandes zu variieren. Zwei mögliche Ausführungen sind in den Fig. 4a, 4b dargestellt. In der Ausführung a wird durch die Abstände der Ausnehmungen bzw. Elektrodensegmente 41 in der Isolationsschicht 45 ein Feldgradient erzeugt. Gemäß Ausführung b läßt sich dies über das Aufbringen verschieden breiter Isolierflächen 45 auf eine Bandlektrode erreichen.

Die Elektrodenanordnungen 10 gemäß den Fig. 4a, 4b sind im Mikrosystem so angeordnet, daß der Feldgradient eine bestimmte Ausrichtung in Bezug auf die Strömungsrichtung im Kanal besitzt. Wird beispielsweise ein Feldgradient schräg zur Kanallängsrichtung ausgebildet, so bedeutet dies, daß die anströmenden Partikel auf eine Feldbarriere mit in Kanalquerrichtung veränderlicher Amplitude treffen. Kleine Teilchen, bei denen auch bei hohen Amplituden nur geringe Polarisationskräfte auftreten, können die Feldbarriere bei hohen Amplituden überwinden, wohingegen größere Teilchen durch die Feldbarriere in Kanalquerrichtung so weit abgelenkt werden, bis die Polarisationskräfte genügend gering sind und die Feldbarriere durchlaufen werden kann. Eine erfindungsgemäße Elektrodenanordnung, deren Elektrodensegmente Feldgradienten bilden, ist somit zur Partikelsortierung in Abhängigkeit von der Ausbildung von Polarisationskräften im jeweiligen Partikel und somit in der Regel in Abhängigkeit von dessen Größe einsetzbar.

Das Prinzip dieser Partikelsortierung ist in Fig. 4c illustriert. Kleine Partikel 30a können die Feldbarriere der Elektrodenanordnung 10 gemäß Fig. 4a bei großen Feldstärken durchdringen, während größere Partikel 30b, 30c erst bei geringeren Feldstärken in Kanalrichtung weitergeführt werden. Die hierzu erforderlichen Amplituden werden anwendungsabhängig je nach den auftretenden Strömungs- und Polarisationskräften gewählt. Dies kann unter Verwendung der an sich bekannten Steuerprinzipien aus der Mikrosystemtechnik, insbesondere aus der Manipulierung von Partikeln auf der Basis negativer Dielektrophorese erfolgen. Die Elektrode 42 dient der Zuführung der Partikel zum Beginn des Feldgradienten.

Die in Fig. 2 dargestellte Abdecktechnik zur Herstellung bandartiger Elektroden kann auch zu ihrer Optimierung gemäß Fig. 5 genutzt werden. Fig. 5 zeigt eine Abwandlung einer Elektrodenanordnung 10 zur Bildung einer trichterförmigen Feldbarriere. Die Elektrodenanordnung 10 besteht aus zwei Einzelelektroden 11a, 11b, die jeweils die Form gekrümmter Elektrodenbänder besitzen. Jede der Einzelelektroden 11a, 11b ist von einer Isolationsschicht 55 mit Ausnehmungen 56 abgedeckt. Die Ausnehmungen 56 lassen vorbestimmte Abschnitte der Einzelelektroden 11a bzw. 11b frei, die die Elektrodensegmente 51 bilden. Die Teile 52 der Einzelelektroden 11a bzw. 11b sind wegen der abdeckenden Isolationsschicht elektrisch nicht wirksam.

Die Elektrodenbänder der Einzelelektroden sind winkelig derart ausgeführt, daß sich immer ein Elektrodenabschnitt, der hin zur Kanalmitte führt und den Elektrodensegmenten 51 entspricht, von einem Elektrodenabschnitt begrenzt wird, der von der Kanalmitte weg weist und den abgedeckten Rückführungen 52 entspricht. Diese Anordnung ermöglicht ein nahtloses Zusammenwirken der Elektrodensegmente, die zwar geometrisch voneinander getrennt sind, sich in Strömungsrichtung (s. Pfeil A) jedoch überlappende Feldbarrieren bilden.

Am Beispiel des Partikeltrichters gemäß Fig. 6 soll noch eine weitere Elektrodenanordnung erläutert werden. In Medien hoher Luftfeuchtigkeit, wie sie z. B. für die Kultur tierischer und humaner Zellen verwendet werden (oder auch im Meerwasser), können die Verluste auf einer Bandleitung (bandförmige Elektrode) so groß sein, daß an deren Ende deutlich geringere oder gar keine Feldeffekte bezüglich der Partikelabdeckung mehr auftreten. Unter derartigen Umständen ist es zweckmäßig, die Elektroden 11a, 11b jeweils in Elektrodensegmente 61a bis d zu teilen und verschiedene Einspeisungen an den Steuerleitungen 64a bis d vorzunehmen. Die Winkel zum Kanalverlauf (Pfeil A) sind dem Strömungsprofil im Kanal angepaßt. Zuführende Teile 62 der Elektrodenanordnung 10 sind zweckmäßigerweise zu isolieren.

Alternativ zu der Darstellung gemäß Fig. 5 können die Einzelelektroden jeweils auch durch flächige Metallschichten nach dem in Fig. 2 erläuterten Prinzip gebildet werden. Die Elektroden können auch durch eine gemeinsame Metallschicht 13, die eine gemeinsame Isolationsschicht 15 mit Ausnehmungen entsprechend den gewünschten Elektrodensegmenten 71 trägt, gebildet werden (s. Fig. 7).

Im folgenden wird eine bevorzugte Ausführungsform der Erfindung unter Bezug auf die Fig. 8 bis 10 erläutert, bei der die Elektrodenanordnung 10 aus einer großen Anzahl von punktförmigen, matrixartig angeordneten Elektrodensegmenten 81 besteht, die sämtlich einzeln ansteuerbar sind.

Fig. 8 zeigt beispielhaft die Anordnung von Elektrodensegmenten 81 auf der Boden- und/oder Deckfläche des Kanals. Die Elektrodenanordnung erstreckt sich vorzugsweise über die gesamte Kanalbreite zwischen den Spacern 83, die die seitlichen Kanalwände bilden. Ein oder mehrere Partikel 30 strömen beispielsweise in Pfeilrichtung (Pfeil A) über die Elektrodenanordnung 10. Mit den Elektrodensegmenten 81 lassen sich beliebige Wirkungen zur Partikelablenkung, insbesondere wie sie in Fig. 1 bis 7 dargestellt wurden, in programmierbarer Weise über die einzeln ansteuerbaren punktförmigen oder quadratischen bzw. rechteckigen Elektrodensegmente in arrayartiger Anordnung erreichen, wenn die Abstände zwischen den Elektrodensegmenten 81 kleiner als die zu manipulierenden Partikel 30 sind. Vorzugsweise ist eine gleichartige Elektrodenanordnung auf der Oberseite des Kanals angebracht, so daß sich elektrische Hochfrequenzfelder von der Oberseite des Kanals zur Unterseite des Kanals ausbilden können. Beispiele für eine mögliche Ansteuerung sind in Fig. 9 und 10 dargestellt.

Fig. 9 zeigt beispielhaft die Ansteuerung eines Elektrodenarrays, wie es in Fig. 8 erläutert wurde. Die hellen Elektrodensegmente sind nicht angesteuert. Die schwarz gezeichneten Elektrodensegmente 91, 91a-h werden mit einer Wechselspannung (z. B. zwischen 1 und 500 MHz) angesteuert. An den entsprechenden Positionen werden auch die in der oberen Ebene des Kanals (hier nicht dargestellt) liegenden Elektrodensegmente angesteuert. Als Beispiel wird die Ansteuerung der Elektrodensegmente im folgenden in Tabellenform aufgelistet. Dabei beschreiben die ungestrichenen Bezugszeichen Gruppen von Elektrodensegmenten der unteren Ebene, während Zahlen mit einem (') sich auf die obere Kanalebene beziehen:

Elektroden	Phasenlage	Elektrode	Phasenlage
91	0°	91f	270°
91'	180°	91f'	90°
91a	0°	91g	0°
91a'	180°	91g'	180°
91b	0°	91h	0°
91b'	180°	91h'	180°
91c	0°		
91c'	180°		
91d	90°		
91d'	270°		
91e	180°		
91e'	0°		

Die Funktionsweise des Systems läßt sich wie folgt darstellen: Die Partikel 30 werden entsprechend dem Pfeil in den Kanal eingeströmt. Wenn die Elektrodenreihen 91, 91a, 91b angesteuert sind, entsteht eine Feldbarriere, die die Partikel in den Zentralbereich der Strömung fokussiert. Über die Elektrodenreihen 91a, 91b werden die Partikel zueinander auf Abstand gebracht. Die Elektrodengruppen 91c-91f bilden einen Quadrupol, der seine Entsprechung 91c'-91f' auf der Oberseite des Kanals besitzt. Diese 8er-Gruppe von Elektroden fungiert entsprechend ihrer Ansteuerung als Feldkäfig und dient dem exakten Positionieren der Teilchen. Werden diese Elektrodengruppe oder zumindest die Elektrodensegmente 91d, 91f abgeschaltet, können die danach ausgeströmten Teilchen durch wahlweises Anschalten der Elektrodenreihen 91g oder 91h auf die rechte oder linke Seite des Kanals gelenkt werden. Es handelt sich bei diesem System somit um ein Partikel/Zell-Bewegungs- und Sortiermodul.

In Fig. 10 wird beispielhaft gezeigt, wie durch eine zu Fig. 9 verschiedene Ansteuerung der Elektrodensegmente eine neuartige Funktion des Systems erreicht werden kann. Eingeströmt wird diesmal ein Teilchengemisch 30a, 30b, 30c, bestehend aus verschiedenen großen und dielektrophoretisch unterschiedlich beeinflussbaren Teilchen (30a - dielektrophoretisch schwach zu beeinflussende Teilchen, 30b - Teilchen, größer als die Abstände zwischen den Elektroden und dielektrophoretisch gut ablenkbar, 30c - Teilchen, deutlich kleiner, als die Elektrodenpixelabstände gewählt wurden). Die Elektrodengruppen 101a, b fokussieren ausschließlich die großen Teilchen 30b auf eine Fangelektrode 102, wo sie festgehalten werden, während die Teilchen 30a und 30c nahezu unbeeinflusst den Kanal durchlaufen werden (Pfeil A). Wenn die Fangelektrode ab- und die Elektrodenpixelreihen 103 angeschaltet werden, bewegen sich die zurückgehaltenen Teilchen 30b nun entlang der eingezeichneten Bahnen und können separat abgefangen werden (Pfeil B). Die Kanalwände 104 können den Hauptkanal in mehrere Kanäle aufspalten.

Eine weitere Anwendung derartiger Arrays ist die universelle Anlage, d. h. potentielle Verwendbarkeit aller Elektrodensegmente oder -pixel, die jedoch in einem irreversiblen Prozeß bei der ersten Nutzung festgelegt bzw. aktiviert werden. Dies könnte z. B. durch Abschlagen einer Isolationsschicht, die Öffnung über einen elektrischen Impuls (Dauer rd. µs- bis s-Bereich, Spannung rd. 10 V bis einige 100 V), auf optischem Weg oder nach einem ähnlichen Prinzip erfolgen.

Die dann freigelegte Struktur kann nur noch erweitert, nicht aber reduziert werden. Zumindest ist letzteres nur durch selektives Aufbringen neuer Isolationen möglich. Entsprechendes wäre über eine Oxidation denkbar. Ein bevorzugtes Mittel, im Kanal gegenüberliegende Elektrodenpixel von einer Isolationsschicht zu befreien, ist der dielektrische Durchschlag über Ansteuerung beider Elektroden mit kurzen elektrischen Impulsen.

5 Eine reversible Variante derartiger Aktivierungen von Punktelektroden kann über photoelektrische Effekte erreicht werden. Geeignete Halbleiter erlauben es, durch Belichtung in ihrer Leitfähigkeit deutlich verändert zu werden. Auf diesem Wege kann durch Belichtung über eine Maske auf einer oder beiden Seiten des Kanals das gewünschte Elektrodenmuster aktiviert werden.

Ein weiteres wichtiges Kriterium zur Optimierung von Bandedelektroden kann deren Unempfindlichkeit gegenüber einer Unterbrechung sein. Um trotzdem die Funktion aufrechtzuerhalten, sind Schleifen und Mehrfachspeisungen sinnvoll. Um die Verluste gering zu halten, können diese Teile der Elektroden mit einer Isolierschicht gegenüber der darüber befindlichen Suspension elektrisch getrennt werden. Einige beispielhafte Ausführungen sind in den Fig. 11a) bis d) zusammengestellt. 114 ist eine Ringelektrode mit sehr kleinem Loop und einer Isolationsschicht 115. Bei der Gestaltung b) handelt es sich um einen weiträumigeren Loop 116 mit ebenfalls teilweiser Isolation. Bei c) ist eine Mikroelektroden-
15 mehrfacheinspeisung 111a bis 111c dargestellt. Die Einspeisungen können entweder permanent oder wahlweise nach Ausfall einer Zuführung angesteuert werden.

Bei der Gestaltung d) ist eine mehrfach gefaltete Bandedelektrode 111d mit teilweiser Isolation 115 gezeigt. Wenn nicht gerade der vordere Teil (nahe der Einspeisung) ausfällt, wird die Funktion immer noch von einem der anderen Teile übernommen. Die dargestellten Elektrodentypen lassen sich in ihren Ausführungen auch sinngemäß kombinieren.

20 In Fig. 12 ist beispielhaft eine über elektrische Impulse programmierbare Elektrodenanordnung dargestellt. Die zehn rechteckigen Elektroden 121 stehen untereinander über die Verbindungsstege 122 in elektrischem Kontakt. Diese Verbindungsstege können über einen Stromimpuls zwischen je zwei benachbarten Elektroden zerstört werden. Dies ermöglicht es, die Verschaltung zwischen den Elektroden per Stromimpuls festzulegen.

25 Patentansprüche

1. Elektrodenanordnung (10) in einem Mikrosystem, das zur dielektrophoretischen Manipulation von Partikeln (30) in einer Suspensionsflüssigkeit in einem Kanal (21) eingerichtet ist, wobei mindestens eine Elektrode (11, 11a, 11b, 12) an einer Wand des Kanals (21) angeordnet ist, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Elektrode (11, 11a, 11b, 12) aus einer Vielzahl von Elektrodensegmenten besteht, die zur Erzeugung mindestens eines Feldgradienten zur Beeinflussung der Bewegungsbahnen der Partikel (30) im Kanal (21) eingerichtet sind.
2. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der die Elektrodensegmente einer Elektrode elektrisch miteinander verbunden sind.
3. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 2, bei der die Elektrode aus mindestens einer metallischen Beschichtung (13) besteht, die eine Isolationsschicht (15) mit Ausnehmungen trägt, durch die die metallische Beschichtung (13) hin zum Kanal freiliegt und die die Elektrodensegmente bilden.
- 35 4. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 3, bei der die Ausnehmungen punkt- oder strichförmig zur Erzeugung von quadratischen oder bandförmigen Elektrodensegmenten ausgebildet sind.
5. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 1, bei der die Elektrodensegmente voneinander elektrisch getrennt und einzeln ansteuerbar sind.
- 40 6. Elektrodenanordnung gemäß Anspruch 5, bei der die Elektrodensegmente (81, 91, 101) matrixartig als Elektrodenarray angeordnet sind.
7. Elektrodenanordnung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der die Elektrodensegmente in Form gerader oder gekrümmter Reihen angeordnet sind, die sich jeweils auf einer Kanalwand vom Rand des Kanals hin zu dessen Mitte zur Bildung einer trichterförmigen Feldbarriere erstrecken.
- 45 8. Verwendung einer Elektrodenanordnung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche zur anwendungsabhängigen Ausbildung von Feldbarrieren im Kanal eines Mikrosystems.
9. Verwendung einer Elektrodenanordnung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7 zur Manipulation synthetischer oder biologischer Partikel in Mikrosystemen auf der Basis von negativer oder positiver Dielektrophorese.

50 Hierzu 11 Seite(n) Zeichnungen

55

60

65

- Leerseite -

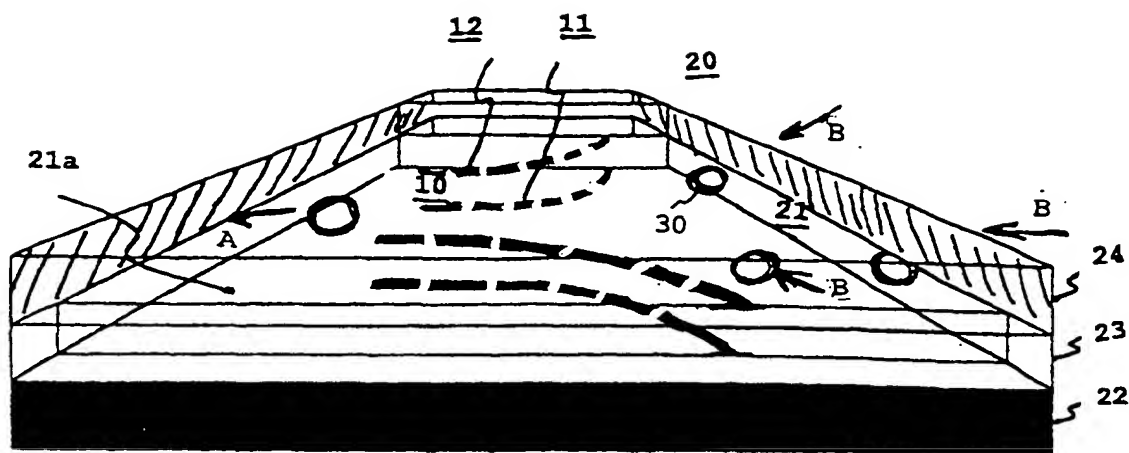


Fig. 1

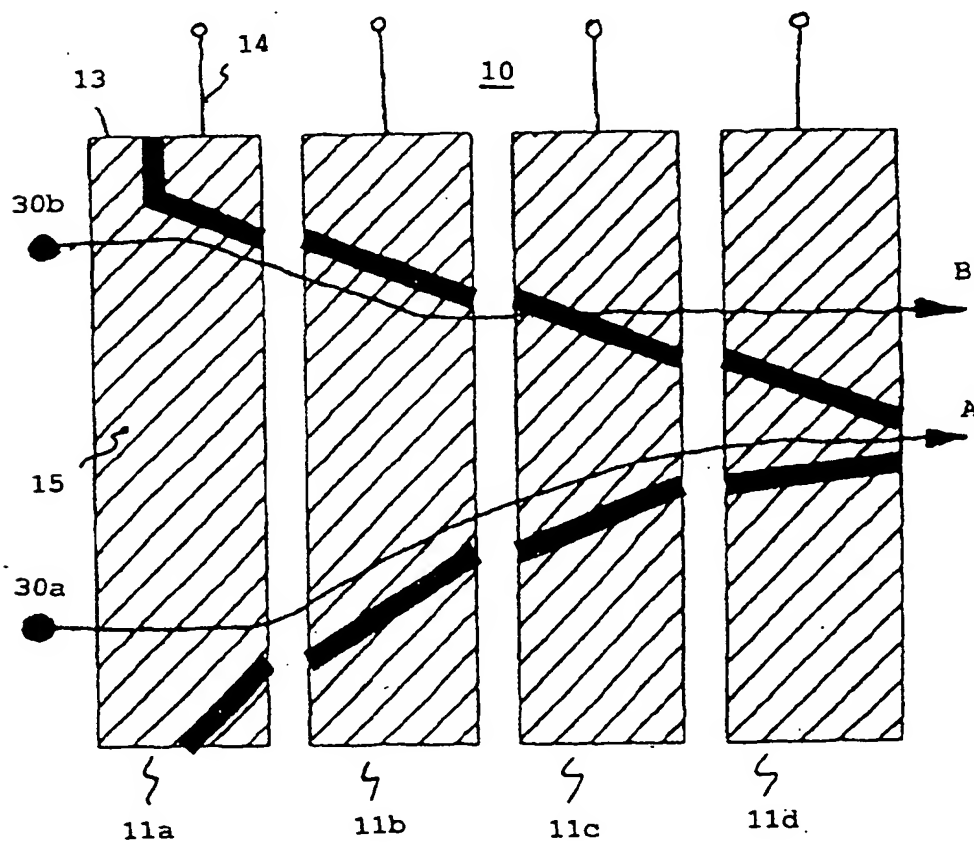


Fig. 2

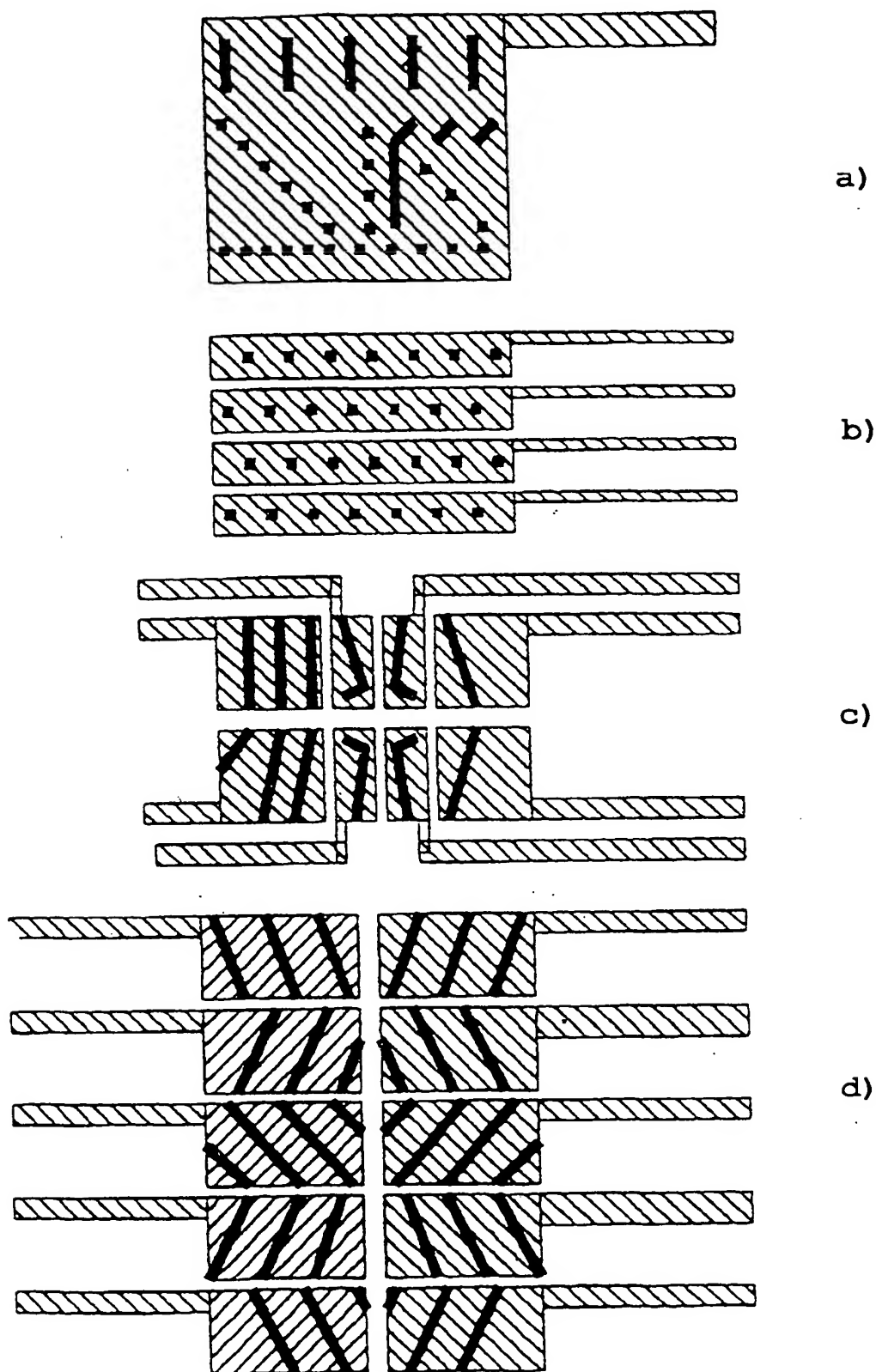
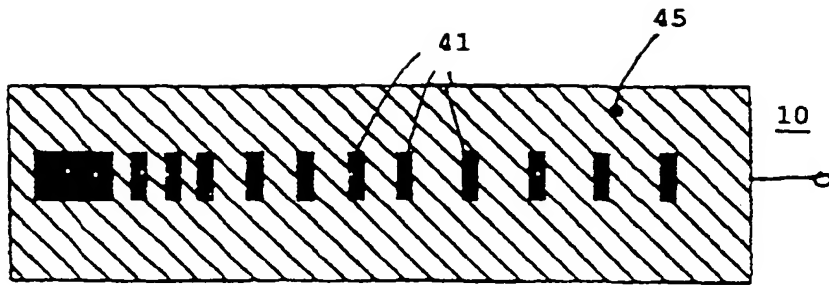
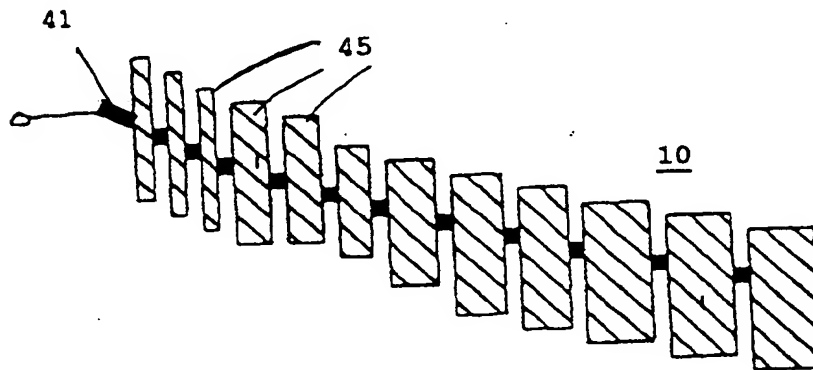


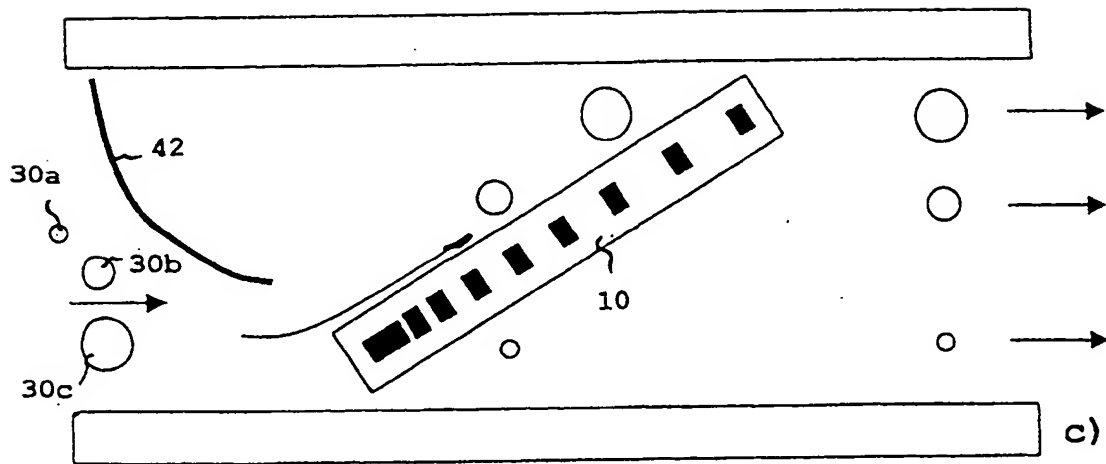
Fig. 3



a)



b)



c)

Fig. 4

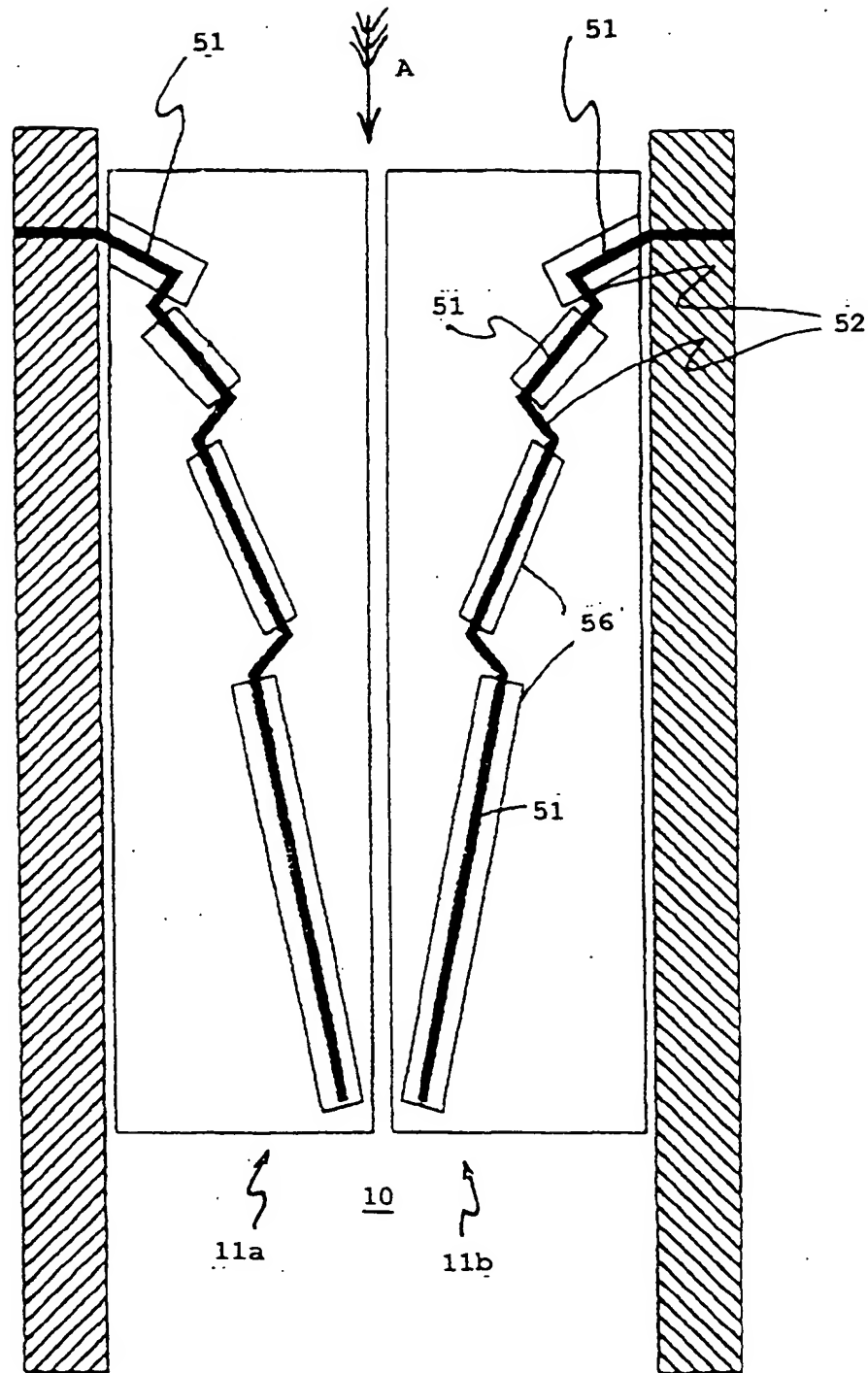


Fig. 5

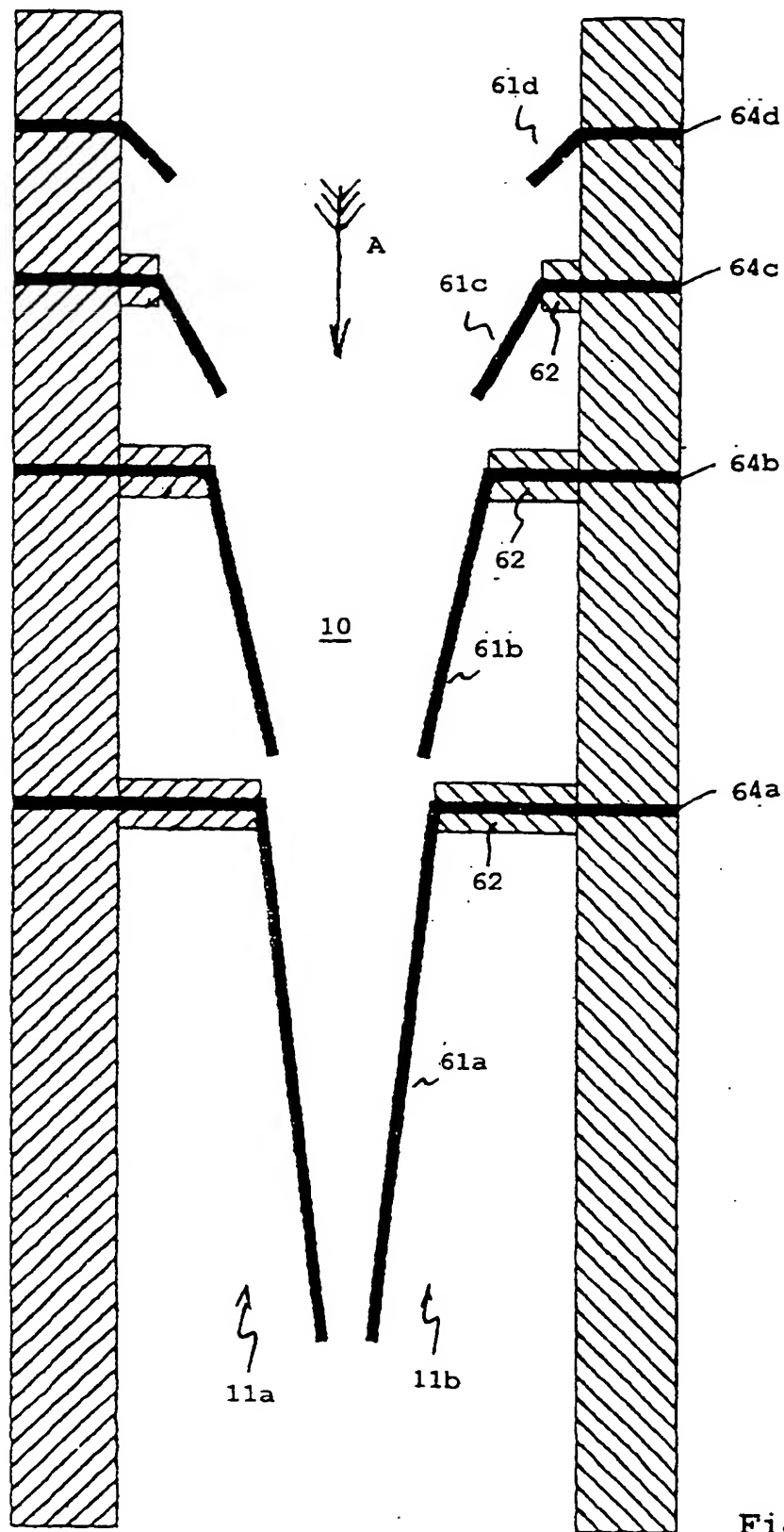


Fig. 6

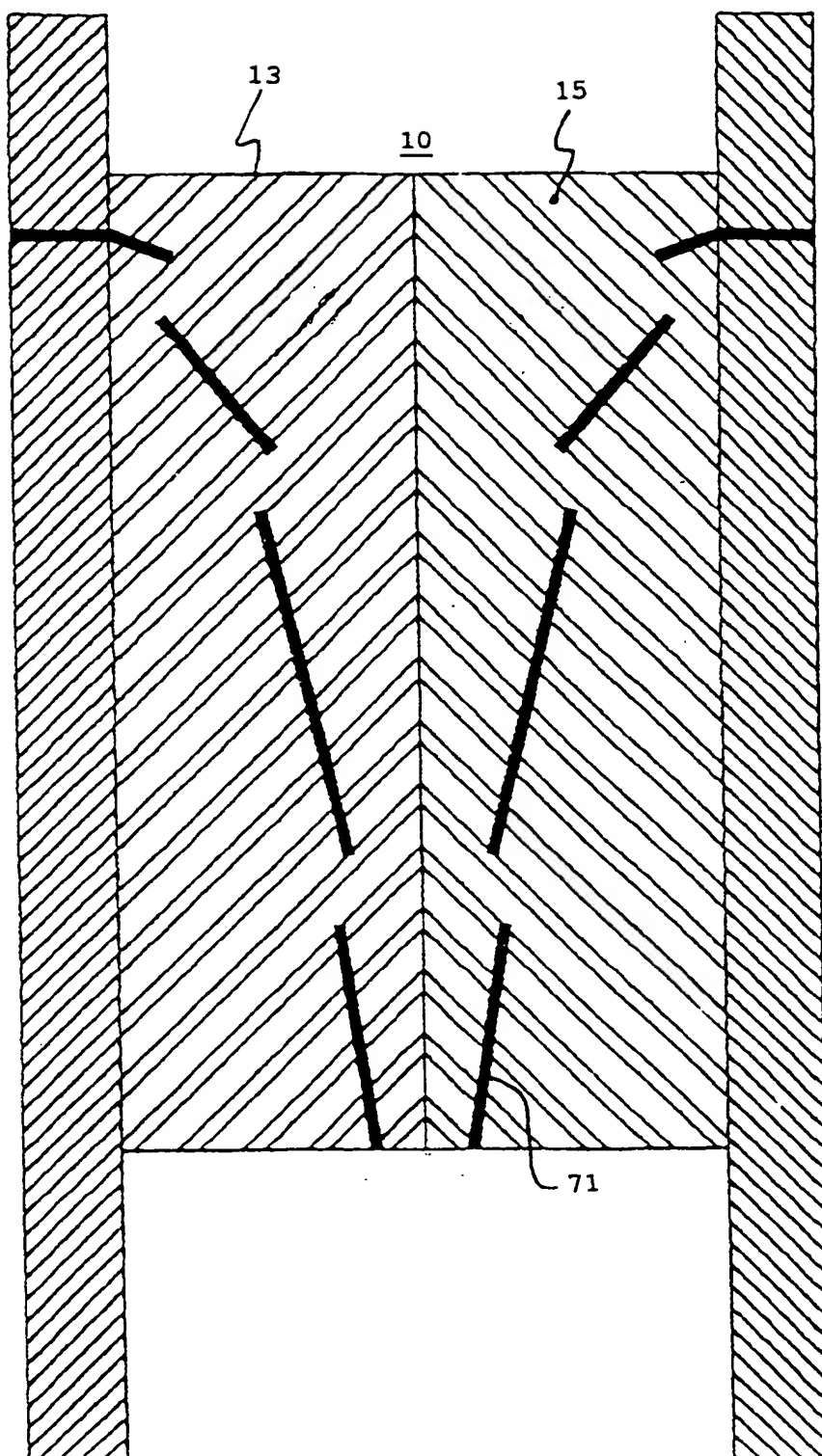


Fig. 7

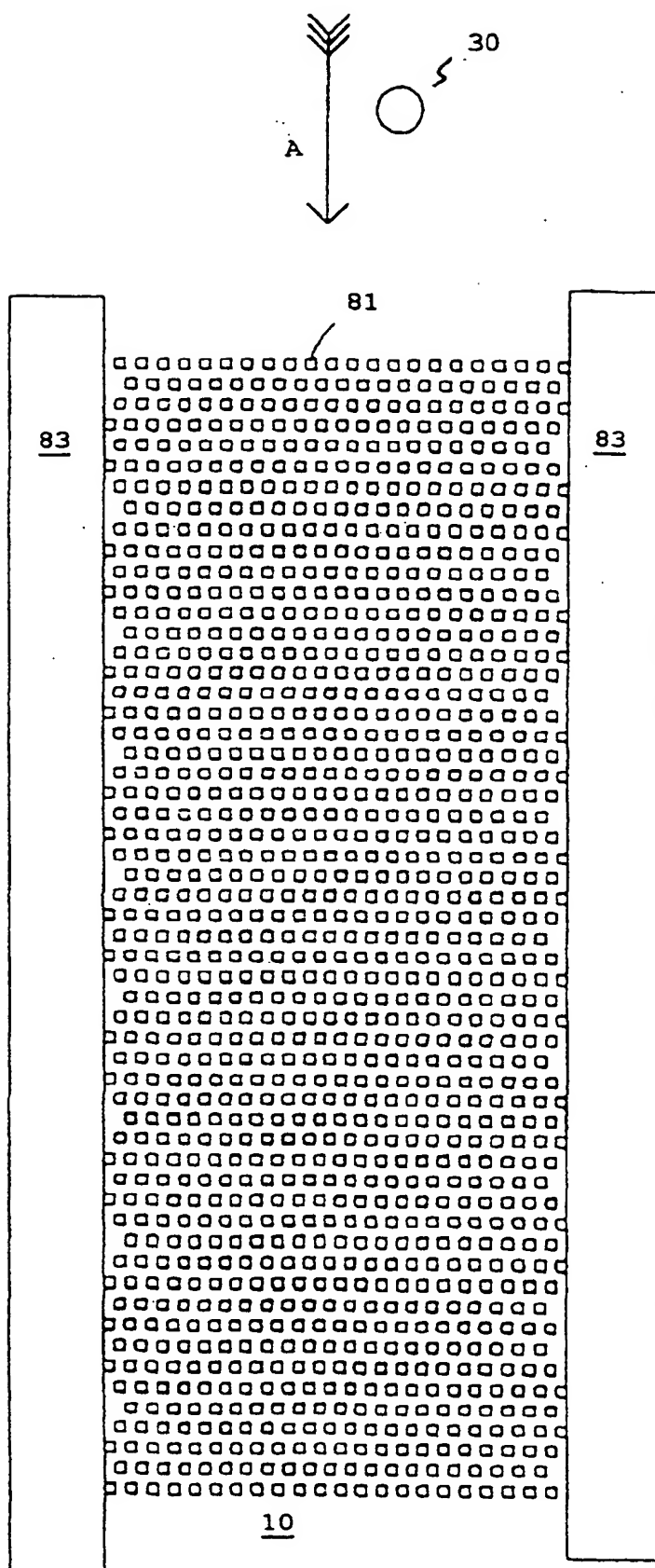


Fig. 8

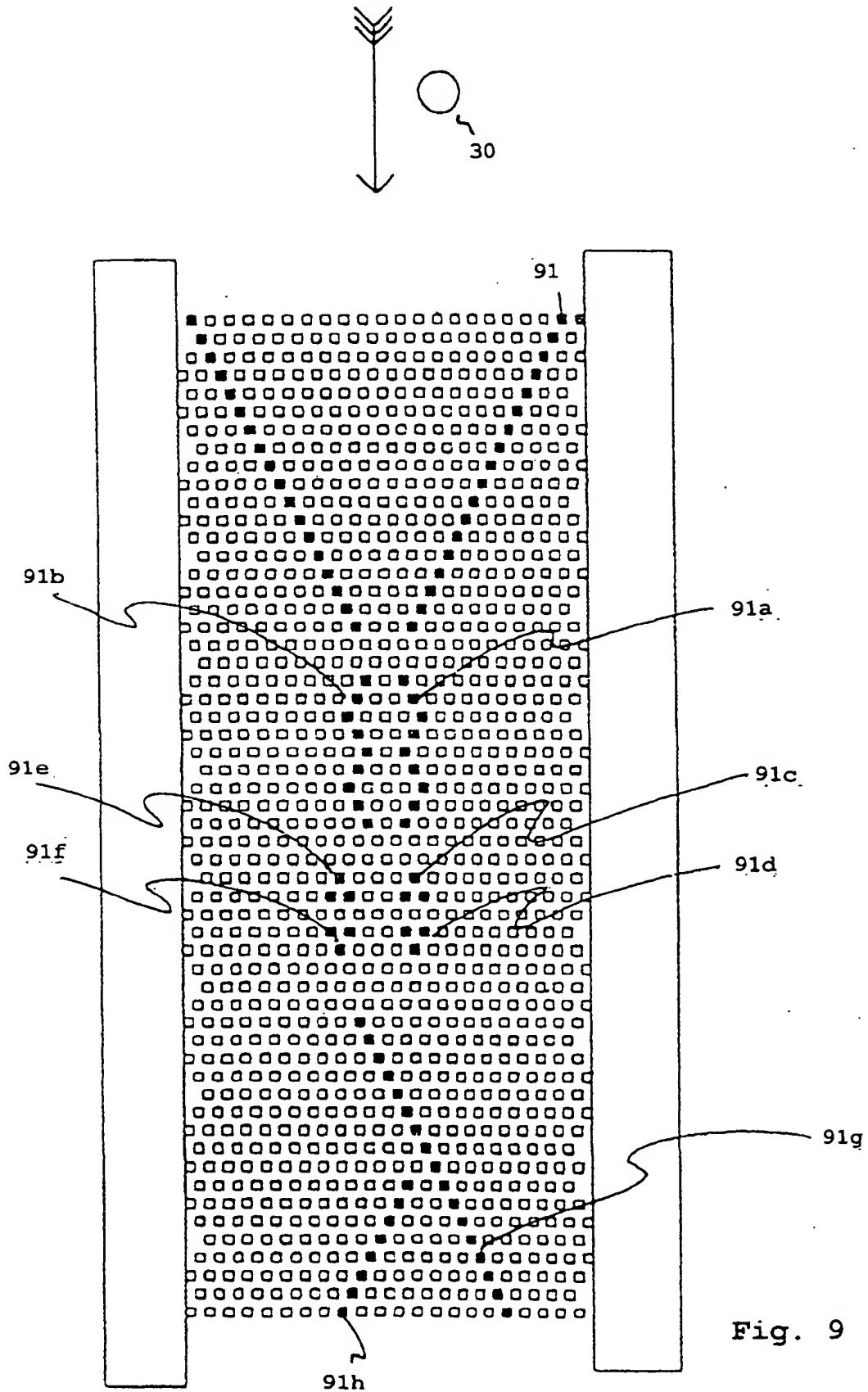
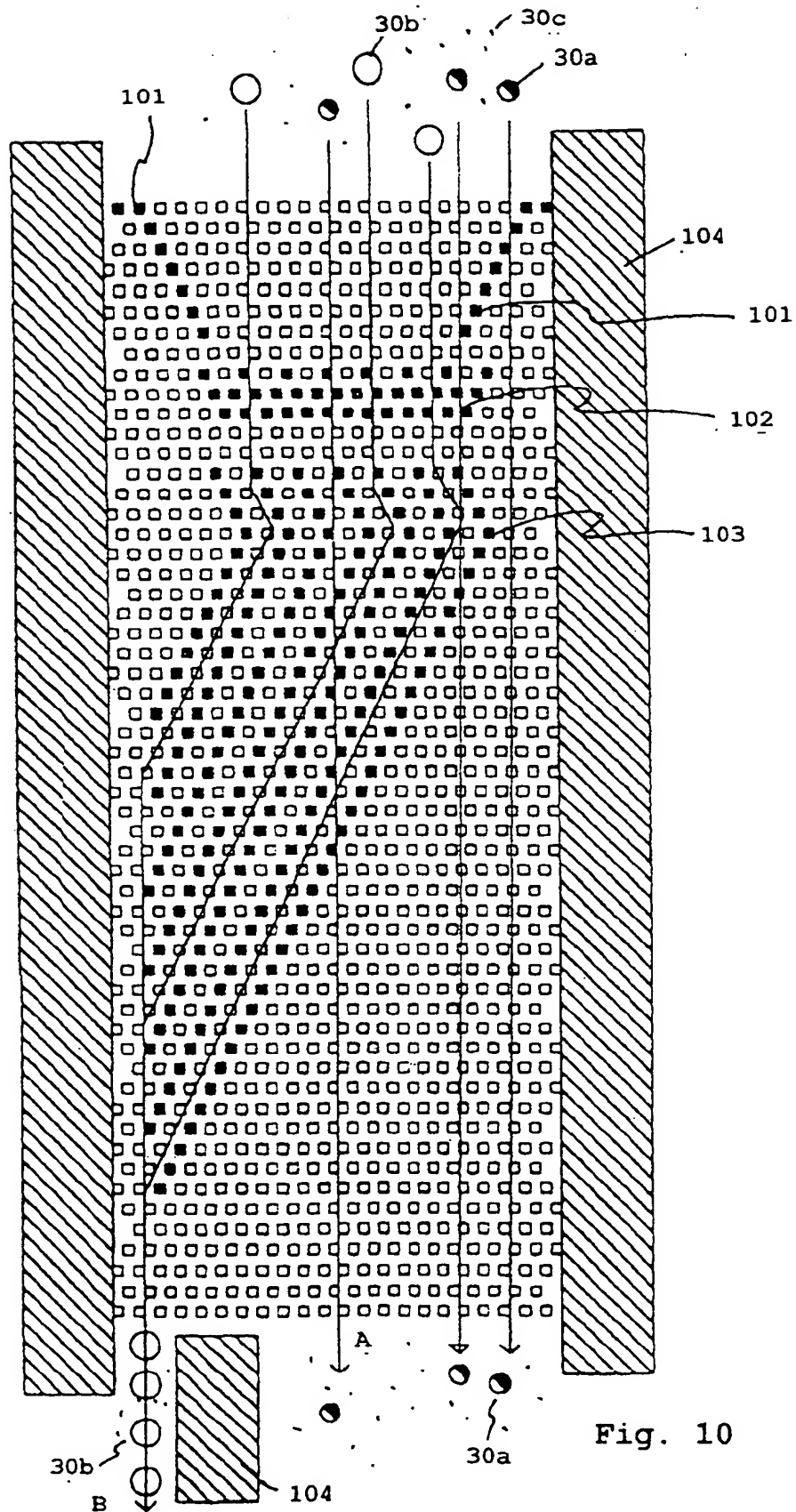
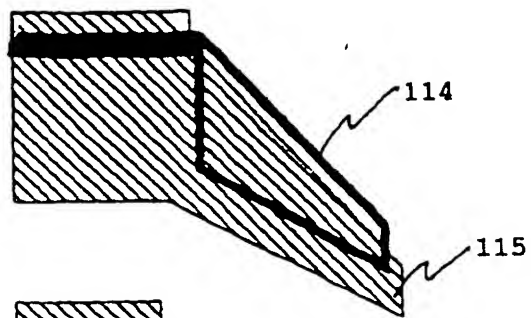
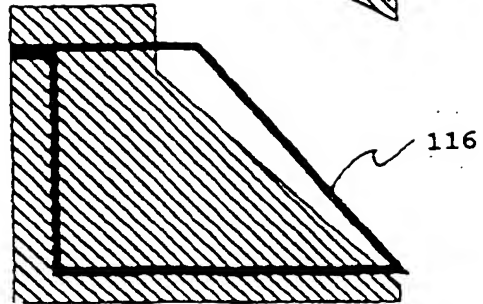


Fig. 9

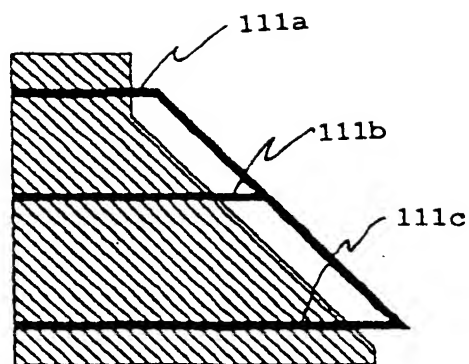




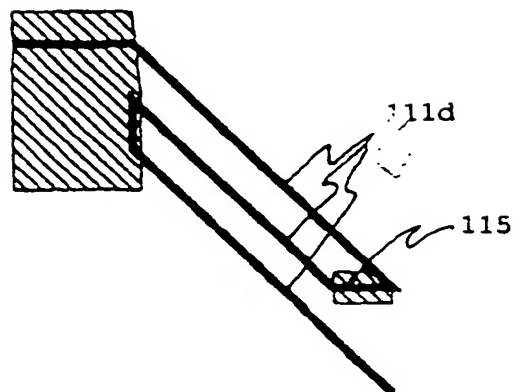
a)



b)



c)



d)

Fig. 11

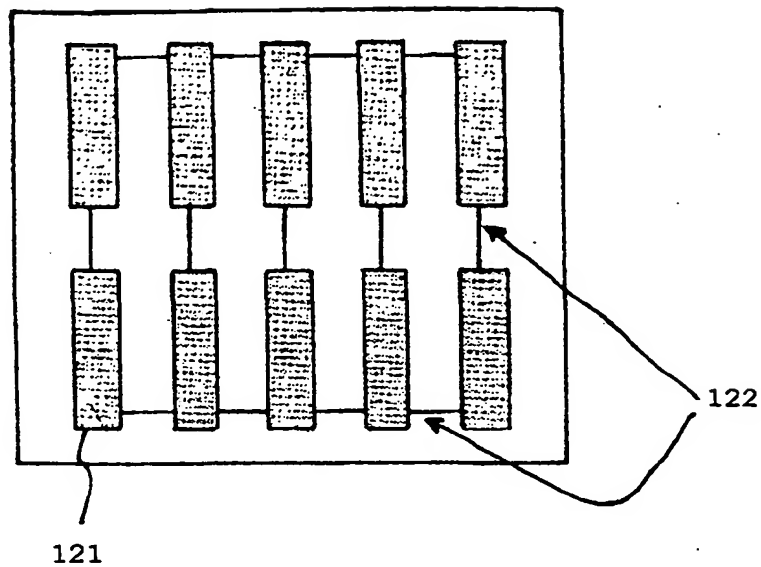


Fig. 12



US006749736B1

(12) **United States Patent**
Fuhr et al.

(10) Patent No.: **US 6,749,736 B1**
(45) Date of Patent: **Jun. 15, 2004**

(54) **ELECTRODE ARRANGEMENT FOR THE DIELECTROPHORETIC DIVERSION OF PARTICLES**

(75) Inventors: Günter Fuhr, Berlin (DE); Thomas Schnelle, Berlin (DE); Rolf Hagedorn, Berlin (DE); Torsten Müller, Berlin (DE)

(73) Assignee: Evotec Technologies GmbH (DE)

(*) Notice: Subject to any disclaimer, the term of this patent is extended or adjusted under 35 U.S.C. 154(b) by 0 days.

(21) Appl. No.: **09/720,222**

(22) PCT Filed: **Jun. 28, 1999**

(86) PCT No.: **PCT/EP99/04469**

§ 371 (c)(1),

(2), (4) Date: **Feb. 22, 2001**

(87) PCT Pub. No.: **WO00/00292**

PCT Pub. Date: **Jan. 6, 2000**

(30) **Foreign Application Priority Data**

Jun. 26, 1998	(DE)	198 28 626
Jun. 29, 1998	(DE)	198 28 919
Nov. 20, 1998	(DE)	198 53 658
Dec. 23, 1998	(DE)	198 60 117

(51) Int. Cl.⁷ **G01N 27/453**

(52) U.S. Cl. **204/643; 204/600**

(58) Field of Search **422/72; 210/695; 204/547, 660, 643, 450, 600; 436/45**

(56) **References Cited**

U.S. PATENT DOCUMENTS

4,134,744 A 1/1979 Peterson et al. 55/118

4,726,904 A	2/1988	Ayers	210/658
5,565,105 A	10/1996	Thakor	210/695
5,569,367 A	* 10/1996	Beitls et al.	204/547
5,993,630 A	* 11/1999	Becker et al.	204/547

FOREIGN PATENT DOCUMENTS

WO	9416821	4/1994	
WO	9804355	2/1998	
WO	98/10869 A1 *	3/1998	B03C/5/02

OTHER PUBLICATIONS

"Dielectrophoretic Sorting of Particles and Cells in a Microsystem" by Fiedler et al. (XP-000755524) Analytical Chemistry, vol. 70, No. 9, May 1, 1998, pp. 1909-1915.

"Radio-Frequency Microtools for Particle and Live Cell Manipulation" by Fuhr et al.; (Natur Wissenschaftenaufsatz 81, 528-535 (1994). Dec., 1994.

"The LabCD™: A Centrifuge-Based Microfluidic Platform for Diagnostics" by Madou et al. SPIE vol. 3259, 0277-786X/98; pp. 80-93. Apr., 1998.

* cited by examiner

Primary Examiner—Alex Noguerola

(74) Attorney, Agent, or Firm—Baker Botts LLP

(57) **ABSTRACT**

Electrode arrangement (10) in a microsystem adapted for dielectrophoretic manipulation of particles (30) in a suspension fluid in a channel (21), wherein at least one electrode (11, 11a, 11b, 12) is arranged on a lateral wall of the channel (21), the electrode (11, 11a, 11b, 12) consisting of a plurality of electrode segments adapted to generate at least one field gradient for influencing the movement paths of the particles (30) in the channel (21). In one embodiment of the invention, the particles are moved in the microsystem by exposure to centrifugal and/or gravitational forces.

7 Claims, 14 Drawing Sheets

